

Diester crosslinked polyglucan hydrogels and reticulated sponges thereof

Patent number: DE2533005
Publication date: 1976-02-12
Inventor: MANNING JAMES H (US); STARK JOHN H (US)
Applicant: INT PAPER CO
Classification:
- international: **A61L15/60; C08B33/02; C08B37/00; C08B37/02; A61L15/16; C08B33/00; C08B37/00; (IPC1-7): C08B37/00; A61K31/715; C08B33/00**
- european: **A61L15/60; C08B33/02; C08B37/00M2D; C08B37/00M2F**
Application number: DE19752533005 19750723
Priority number(s): US19740490968 19740723; US19750568030 19750414

Report a data error here

Abstract not available for DE2533005

Abstract of corresponding document: **US4002173**

Novel hydrogel compositions of diester crosslinked polyglucans and a process for their preparation are provided. Amylose, dextran, and pullulan succinates and glutarates when crosslinked as described were found to not only have use as general fluid sorbants but also to have exceptional hemostatic activity, adherence to a wound, and bioabsorption without causing undue irritation of the tissue or toxic effects. Reticulated hydrogel sponges made of the crosslinked diesters which are particularly useful as general fluid sorbants, and those of amylose succinate and amylose glutarate are most excellent bioabsorbable hemostatic agents. The sponges are made by lyophilizing water-soluble salts of the mono- or half-esters, such as water-soluble salts of amylose succinate or amylose glutarate, under process conditions of the invention in the presence of a reticulating agent which causes a controlled melting of the salt solution as it nears the dry state during the lyophilizing step. The resulting reticulated, porous, open-celled sponge is then crosslinked by heating the sponge under dehydrating conditions to form diester-crosslinks. The sponge is highly porous, is moderately strong, and has the ability to retain up to 40 times its weight of isotonic saline. When neutralized with physiologically acceptable salts, the sponge has exceptional hemostatic activity, adherence to bleeding tissue, and bioabsorption without causing substantial irritation of the tissue or toxic effects.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

THIS PAGE BLANK (USPS)

BEST AVAILABLE COPY

13 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

12 Patentschrift
11 DE 2533005 C2

51 Int. Cl. 4:
C08B 37/00
C 08 B 33/02
A 61 K 31/725

21 Aktenzeichen: P 25 33 005.6-42
22 Anmeldetag: 23. 7. 75
43 Offenlegungstag: 12. 2. 76
45 Veröffentlichungstag
der Patenterteilung: 15. 1. 87

Innerhalb von 3 Monaten nach Veröffentlichung der Erteilung kann Einspruch erhoben werden

30 Unionspriorität: 32 33 31
23.07.74 US 490968-74 14.04.75 US 568030-75
73 Patentinhaber:
International Paper Co., New York, N.Y., US
74 Vertreter:
Vossius, V., Dipl.-Chem. Dr.rer.nat., Pat.-Anw., 8000
München

72 Erfinder:
Manning, James H., Monroe, N.Y., US; Stark, John
H., Campbell Hall, N.Y., US
56 Im Prüfungsverfahren entgegengehaltene
Druckschriften nach § 44 PatG:
NICHTS-ERMITTELT

54 Wasserunlösliche vernetzte Polyglucandiester-Hydrogele, Verfahren zu ihrer Herstellung und ihre Verwendung
als blutstillende Mittel

Produkt aus 2 Komponenten

Polyglucan

*Diäthyl / Diäthylacetat
Rensel / Glukose*

DE 2533005 C2

DE 2533005 C2

. 46 .

BEST AVAILABLE COPY

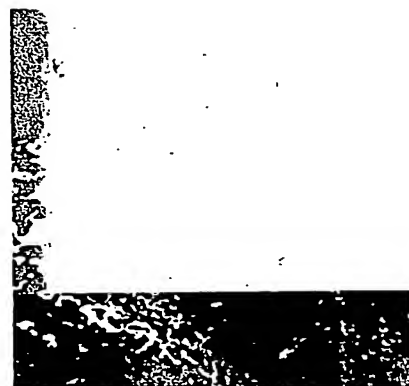
FIG. 1



FIG. 2



FIG. 3



25 33 005

lin./verz Polymers des
Glycerol

Patentansprüche

1. Wasserunlösliche vernetzte Polyglucandiester-Hydrogele in Form eines Pulvers oder in Form netzartiger poröser Schwämme aus Amylose, Dextran oder Pullulan und Bernsteinsäure oder Glutarsäure mit einer Salzretention des neutralen Natriumsalzes des Hydrogels in einer isotonischen Kochsalzlösung von etwa 5 bis 30, erhältlich nach dem Verfahren gemäß Anspruch 5 oder 6.
2. Hydrogelschwamm nach Anspruch 1, gekennzeichnet durch eine mittlere Porengröße von höchstens 1 mm, ein Leervolumen von etwa 80 bis 95% und ein Schüttgewicht von 0,30 bis 0,075 g/cm³.
3. Hydrogelschwamm nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß er aus vernetztem Amylosesuccinat oder -glutarat besteht.
4. Hydrogelschwamm nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß er auf seiner Oberfläche wenigstens zum Teil ein Hydrogelpulver nach Anspruch 1 in einer Menge von etwa 0,1 bis 1,0 Teilen pro Gewichtseinheit des Schwamms aufweist.
5. Verfahren zur Herstellung von vernetztem Polyglucandiester-Hydrogelpulver nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man

- a) zunächst durch Umsetzung von Amylose, Dextran oder Pullulan mit Bernsteinsäure- oder Glutarsäureanhydrid den entsprechenden Polyglucanbernsteinsäure- oder -glutarsäuremonoester mit einem Substitutionsgrad von 0,35 bis 2,5 in an sich bekannter Weise herstellt
- b) den erhaltenen Monoester auf einen pH-Wert von weniger als 5,2 ansäuert,
- c) den angesäuerten Monoester bis auf einen Wassergehalt von weniger als 10% trocknet und
- d) den so erhaltenen Monoester der Vernetzungsreaktion unterwirft, wobei das Restwasser und das bei der Vernetzungsreaktion unter Bildung von Diestergruppen entstehende Wasser bei Temperaturen von höchstens etwa 135°C entfernt werden und wobei die Vernetzungszeit so gewählt wird, daß das entstehende Produkt als neutrales Natriumsalz eine Salzretention von etwa 5 bis 30 aufweist und gegebenenfalls
- e) das erhaltene Hydrogelpulver in ein physiologisch verträgliches Salz mit einem pH-Wert von etwa 5 bis 8 überführt.

6. Verfahren zur Herstellung von vernetztem Polyglucandiester-Hydrogelschwamm nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man

- a) zunächst durch Umsetzung von Amylose, Dextran oder Pullulan mit Bernsteinsäure- oder Glutarsäureanhydrid den entsprechenden Polyglucanbernsteinsäure- oder -glutarsäuremonoester mit einem Substitutionsgrad von 0,35 bis 2,5 in an sich bekannter Weise herstellt,
- b) den erhaltenen Monoester auf einen pH-Wert von weniger als 5,2 ansäuert,
- c) nach dem Ansäuern Dimethylsulfoxid, Dimethylacetamid, Formamid, Dimethylformamid, 2-Pyrrolidon oder 1-Methyl-2-pyrrolidon als Netzwerkbildner in einer solchen Menge zugibt, daß während der nachfolgenden Gefriertrocknung ein kontrolliertes Schmelzen ermöglicht wird,
- d) das Gemisch bei einer Temperatur unterhalb etwa -30°C einfriert oder bei einem Druck von höchstens 1,3 mbar gefriertrocknet und
- e) das nach d) erhaltene Produkt der Vernetzungsreaktion unterwirft, wobei das Restwasser und das bei der Vernetzungsreaktion unter Bildung von Diestergruppen entstehende Wasser bei Temperaturen von höchstens etwa 135°C entfernt werden und wobei die Vernetzungszeit so gewählt wird, daß das entstehende Produkt als neutrales Natriumsalz eine Salzretention von etwa 5 bis 30 aufweist, und
- f) den erhaltenen Hydrogelschwamm in ein physiologisch verträgliches Salz mit einem pH-Wert von etwa 5 bis 8 überführt.

7. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, dadurch gekennzeichnet, daß man als Monoester Polyglucansuccinat oder -glutarat mit einem Substitutionsgrad von etwa 0,8 bis 1,2 einsetzt.

8. Verwendung der vernetzten Polyglucandiester-Hydrogele nach Anspruch 1 als blutstillende Mittel.

Beschreibung

Polyglucanhydrogele mit Diäther-Vernetzungsgruppen sind bekannt, vgl. US-PS 32 08 994 und 30 42 667. Diese Polyglucanhydrogele können jedoch nicht als biologisch resorbierbare hämostatische Mittel eingesetzt werden, da sie nicht biologisch abbaubar sind.

Zahlreiche Typen von Polyglucanen sind als biologisch resorbierbare hämostatische Mittel bekannt, wie NO₂-oxidierte Cellulose (Oxycel) oder NO₂-oxidierte und regenerierte Cellulose (Surgicel). Diese Produkte haben jedoch mehrere Nachteile:

- (1) Sie reagieren stark sauer, verzögern die Wundabheilung und können in extremen Fällen sogar Gewebenekrose erzeugen;
- (2) sie sind in der Zusammensetzung nicht einheitlich, da schon nach 30 Tagen Rückstände gebildet werden, die Gewebsentzündungen verursachen;
- (3) sie haften nicht fest am blutenden Gewebe.

BEST AVAILABLE COPY

hier -04

+ Säure -04

keine Aldehydgruppe

Cellulosesulfat und Carboxymethylcellulose sind ebenfalls als biologisch resorbierbare hämostatische Mittel bekannt; vgl. US-PS 27 64 159, 27 72 999, 27 73 000, 29 14 444 und 31 22 479. Diese Produkte sind aber nur in der Säureform wirksam und verursachen daher verzögertes Abheilen und starke entzündliche Reaktionen.

In der US-PS 37 65 419 ist die Verwendung von Amyloseacetaten mit einem bestimmten Substitutionsgrad als hämostatisches Mittel beschrieben. Diese Monoester können jedoch keine Diestervernetzungen bilden und besitzen nicht die erforderlichen hämostatischen Eigenschaften.

Bisher ist kein biologisch resorbierbares, hämostatisches Polyglucan mit einem neutralen pH-Wert entwickelt worden, das unmittelbar hämostatische Aktivität besitzt und unter enzymatischer Hydrolyse zu natürlichen Metaboliten des Gastorganismus resorbiert wird.

Stärke-, Amylose-, Algin-, Gelatin- und Kollagenschwämme sind als resorbierbare hämostatische Mittel bekannt. Das Verfahren zur Herstellung des Stärkeschwamms ist in der US-PS 25 97 011 beschrieben. In der US-PS 30 81 181 ist ein Verfahren zur Herstellung von Amyloseschwämmen beschrieben. In der US-PS 36 53 383 ist ein Verfahren zur Herstellung von Alginschwämmen beschrieben. Das Verfahren zur Herstellung von Gelatineschwämmen ist in den US-PS 24 65 357 und 28 99 262 beschrieben. Das Verfahren zur Herstellung von Kollagenschwämmen ist in der CA-PS 9 20 754 beschrieben. Teilweise hydrolysierte Polyacrylnitrilschwämme sind in der US-PS 37 09 842 beschrieben. In den US-PS 27 64 159, 29 14 444 und 31 22 479 sind Schwämme aus Stärke-, Inulin- und Celluloseäthern beschrieben. Nur Gelatine- und Kollagenschwämme sind zur Zeit im Handel als resorbierbare hämostatische Schwämme erhältlich. Diese resorbierbaren Schwämme haben einen oder mehrere Nachteile, wie unzureichende hämostatische Aktivität, fehlende Haftfähigkeit an blutenden Gewebe oder Erzeugung heftiger Fremdkörperabwehrreaktionen.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, wasserunlösliche vernetzte Polyglucandiester-Hydrogele in Form eines Pulvers oder in Form netzartiger poröser Schwämme sowie ein Verfahren zu ihrer Herstellung zu schaffen, die die Nachteile der bekannten Hydrogelschwämme und anderer Produkte nicht aufweisen und die hervorragendes Haftvermögen und hämostatische Eigenschaften an der blutenden Wunde besitzen, nicht hautreizend sind und unter enzymatischer Hydrolyse zu natürlichen Metaboliten des Gastorganismus ohne Reizung des Gewebes oder toxische Effekte vollständig resorbiert werden.

Diese Aufgabe wird durch die Erfindung gelöst. Die Erfindung betrifft somit die in den Patentansprüchen 1 bis 8 gekennzeichneten Gegenstände.

Die wasserunlöslichen vernetzten Polyglucandiester-Hydrogele bestehen aus einem dreidimensionalen Netzwerk aus Amylose, Dextran oder Pullulan und Bernsteinsäure oder Glutarsäure. Die Produkte sind praktisch frei von Fenstern oder geschlossenen Zellen.

Wenn eine wäßrige Amylosesuccinat- oder Amyloseglutaratlösung in einer bestimmten Weise in Gegenwart eines Netzwerkbildners lyophilisiert wird, schmilzt sie an einem bestimmten Punkt des Gefrier-trocknungszyklus unter Bildung eines netzartigen Schwammes. Dieses Phänomen wird beim Gefrier-trocknen manchmal als "Zurückschmelzen" (melt-back) bezeichnet.

Polyglucanmono- oder -halbestere der Bernstein- oder Glutarsäure können nach einer Vielzahl von Methoden hergestellt werden. Für die Zwecke der Erfindung kann jede Methode angewendet werden, bei der ein völlig wasserlösliches Polysaccharid in Form eines Bernstein- oder Glutarsäuremonoesters mit einem Substitutionsgrad von 0,35 bis 2,5 entsteht. Der Substitutionsgrad ist das Molverhältnis von Succinat oder Glutarat pro Anhydroglucose. Es wurde sowohl nach einem von Jeanes and Jones in J. Amer. Chem. Soc., Bd. 74 (1952), Seiten 6116 bis 6117, beschriebenen Verfahren mit Hilfe von heißem Formamid als auch nach einem abgewandelten, in der US-PS 24 61 139 beschriebenen Verfahren mit Hilfe von mäßig alkalischer Alkalilauge gearbeitet.

Wenn die Polyglucansuccinate oder -glutarate in der beschriebenen Weise getrocknet werden, kondensieren die freien Carboxylgruppen der Bernstein- oder Glutarsäuremonoester intermolekular mit nicht umgesetzten Hydroxylgruppen eines anderen Polyglucanmoleküls unter Bildung von Esterquerverbindungen. Das entstandene Produkt ist ein Hydrogel. Ein Produkt, dessen Vernetzungsgrad einen solchen Wert hat, daß es wasserunlöslich ist, aber in Wasser quillt, wird als Hydrogel bezeichnet.

In den Abbildungen (Fig. 1—3) sind feste Hydrogele der Erfindung wiedergegeben.

Fig. 1 zeigt eine typische Elektronenraster-Mikrophotographie des erfindungsgemäßen netzwerkartigen Hydrogelschwamms von Amylosesuccinat in trockenem Zustand und 145facher Vergrößerung;

Fig. 2 zeigt in 52facher Vergrößerung im Querschnitt einen gemäß Beispiel 12 hergestellten Schwamm, der in einem Epoxidharz eingebettet ist;

Fig. 3 zeigt 145fach vergrößert eine Mikrophotographie eines Teils der in Fig. 1 wiedergegebenen Probe nach dem Quellen in Wasser und anschließendem Gefrier-trocknen. Es ist zu erkennen, daß die Vernetzungen des diester-vernetzten Amylosesuccinats des dreidimensionalen Netzwerks in der Größe anwachsen und eine eigene mikroporöse Struktur besitzen. Die Vernetzungen des Schwamms selbst sind deshalb Hydrogele;

Fig. 4 zeigt graphische Darstellungen der Häufigkeitsverteilung in % der Porengrößen in vier gemäß Beispiel 12 hergestellten Schwämmen.

Der Ausdruck "Polyglucan" bezeichnet Amylose, Pullulan oder Dextran mit einem mittleren Molekulargewicht von ungefähr 500 bis mehrere Millionen, die aus Glucoseresesten bestehen, die untereinander hauptsächlich in der α_{1-6} -Stellung oder α_{1-4} -Stellung glykosidisch verbunden sind. Zur Herstellung biologisch resorbierbarer hämostatischer Mittel werden lineare und α -verbundene Glucane bevorzugt.

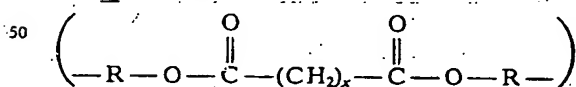
Für die genannten Polyglucane ist Wasser das geeignetste Reaktionsmedium; unter bestimmten Umständen können auch andere Lösungsmittel mit ähnlichen Lösungseigenschaften, wie Dimethylsulfoxid, Formamid, Dimethylformamid, Dimethylacetamid, 2-Pyrrolidon oder 1-Methyl-2-pyrrolidon, verwendet werden. Auch Lösungsgemische mit Wasser als Hauptbestandteil können verwendet werden.

Die Bernstein- oder Glutarsäure wird vorzugsweise in Form ihrer Anhydride eingesetzt.

Die diester-vernetzten Polyglucan-Hydrogelpulver werden folgendermaßen hergestellt:

- (a) Das Polyglucan wird zuerst in einem Lösungsmittel, wie heißem Formamid, wäßriger Alkalihydroxidlösung oder Wasser, aufgelöst.
- (b) Die Polyglucanlösung wird mit Bernsteinsäureanhydrid oder Glutarsäureanhydrid unter Bildung des entsprechenden Monoesters umgesetzt. Bei der Umsetzung in heißem Formamid ist Natriumacetat, in Wasser Natriumhydroxid ein geeigneter Katalysator. In wäßrigen Systemen wird der pH-Wert bei etwa 7,0 bis 9,0 und die Temperatur bei 5 bis 25°C gehalten. Die Polyglucanmonoester sollen einen Substitutionsgrad (SG) von etwa 0,35 bis 2,5, vorzugsweise von 0,8 bis 1,2 besitzen. Produkte mit höherem oder niedrigerem SG besitzen entweder nicht genügend Vernetzungsstellen oder können in Wasser unlöslich sein.
- (c) Das Reaktionsgemisch wird von unlöslichen Verunreinigungen abfiltriert.
- (d) Unerwünschte Salze oder Nebenprodukte mit niedrigem Molekulargewicht werden aus dem Reaktionsgemisch durch Dialyse oder Ausfällen in einem organischen Lösungsmittel, wie Aceton oder einem aliphatischen Alkohol, oder durch Senken des pH-Wertes entfernt.
- (e) Die Polyglucansuccinat- oder Polyglucanglutaratmonoester werden in der Lösung in die freien Säuren umgewandelt. Dazu wird der pH-Wert auf weniger als etwa 5,2, vorzugsweise weniger als 4,5 und oberhalb 3,8 eingestellt. Vorzugsweise werden Salze mit niedrigem Molekulargewicht, die während der pH-Einstellung gebildet werden, durch Dialyse entfernt. Die untere pH-Wertgrenze wird oft durch die Löslichkeit der Polyglucanmonoester in der Säureform bestimmt. Beispielsweise ist Amylosesuccinat mit einem SG von ungefähr 1 in Wasser unterhalb pH 3,8 unlöslich. Das Produkt wird deshalb nicht auf einen pH-Wert von unterhalb 3,8 angesäuert.
- (f) Der Polyglucanmonoester in der Säureform wird entweder als dünner Film auf einer Unterlage oder durch Sprühen zu einem nichtklebrigen, vorzugsweise weniger als 10% Wasser enthaltenden Produkt getrocknet.
- (g) Das erhaltene Produkt wird dadurch vernetzt, daß man das Restwasser und das bei der Vernetzung entstehende Reaktionswasser abtrennt. Bei der Umsetzung in einem Vakuumofen oder in einem wasserfreien Lösungsmittel kann die Temperatur etwa 55°C betragen. Vorzugsweise wird aber ein Umlufttrockner mit einer Temperatur von oberhalb 105°C zur Bildung der Diestervernetzungen verwendet. Die obere Temperaturgrenze liegt bei etwa 135°C, da die Verkohlung der Produkte im allgemeinen oberhalb dieser Temperatur beginnt. Die zur Vernetzung erforderliche Zeit hängt nicht nur vom pH-Wert des Produktes, der Temperatur, dem Druck, dem Luftstrom und der relativen Feuchtigkeit, sondern auch von der Art des Polyglucans, vom Substitutionsgrad des Monoesters, der Filmdicke oder Teilchengröße ab. Sie wird so gewählt, daß ein wasserunlösliches Produkt entsteht, das als pulverisiertes neutrales Natriumsalz sein Trockengewicht auf etwa das 5- bis 30fache, vorzugsweise etwa 5- bis 20fache seines Ausgangsgewichtes mit isotonischer Kochsalzlösung steigern kann. Dieses Phänomen ist als Salzretention bekannt. Um hämostatisch aktiv zu sein, soll das Produkt eine Salzretention von etwa 5 bis 30, vorzugsweise etwa 5 bis 20 haben.
- (h) Der Film wird von der Unterlage entfernt und entweder trocken oder naß zur gewünschten Größe gemahlen.
- (i) Zur Erzielung maximaler Absorptionseigenschaften, bester biologischer Verträglichkeit und Stabilität wird das Pulver in physiologisch verträgliche Salze, wie Natrium-, Kalium-, Magnesium-, Ammonium- oder Calciumsalze, mit einem pH-Wert von etwa 5 bis 8 umgewandelt. Geeignete Anionen dieser Salze sind Succinate, Glutarate, Acetate, Hydroxide, Carbonate, Bicarbonate, Chloride oder ihre Gemische.
- (j) Zur leichteren Handhabung werden die Pulver vorzugsweise zu Korngrößen von größer als 0,075 mm gemahlen oder durch Sprühen getrocknet. Die obere Grenze liegt bei etwa 0,2 mm, da größere Teilchen langsamer quellen und vom Körper langsamer resorbiert werden.

Die bevorzugten Reaktionsprodukte enthalten lineare Polyglucanmoleküle, die sowohl Monoester- als auch Diesterreste der Bernstein- oder Glutarsäure sowie deren Salze besitzen, die durch Diesterbrücken der allgemeinen Formel



verbunden sind, wobei R der Polyglucanrest und x eine ganze Zahl mit einem Wert von 2 oder 3 ist.

- (k) Die bevorzugten Hydrogele bestehen aus dreidimensional vernetzten Produkten aus Polyglucanmolekülen, hauptsächlich mit α -1-6- und α -1-4-Bindungen, sowie ihren Bernstein- oder Glutarsäuremonoestern und -diestern und deren Salzen, die durch Esterbrücken der vorstehenden allgemeinen Formel miteinander verbunden sind.

Die Hydrogele sind in Wasser unlöslich, können aber auf Grund der vorhandenen Hydroxyl- und Carboxylgruppen sowie ihrer Salze in Wasser quellen. Die Quellkapazität der Hydrogele wird als Gewichtsverhältnis des in isotonischer Salzlösung gequollenen Produktes zum trockenen Produkt ausgedrückt und als Salzretention bezeichnet. Die Salzretention der erfindungsgemäßen Hydrogele in Form ihrer Natriumsalze liegt im Bereich von etwa 5 bis 30 und besonders bevorzugt bei 5 bis 20.

- (l) Resorbierbare, netzartige Schwämme von diester-vernetzten Polyglucansuccinaten oder -glutaraten, vorzugsweise von Amylosesuccinaten oder -glutaraten, werden gemäß den vorstehend erläuterten Stufen (a) bis (e), gefolgt von den Stufen (f) bis (k) hergestellt:

(f) Eine Polyglucansuccinat- oder Polyglucanglutaratlösung mit einer Konzentration von 2,5 bis 7,5%,

vorzugsweise 3,0 bis 5,0%, wird mit Dimethylsulfoxid, Dimethylacetamid, Formamid, Dimethylformamid, 2-Pyrrolidon oder 1-Methyl-2-pyrrolidon als Netzwerkbildner versetzt. Diese Lösungsmittel wurden vorstehend als Reaktionslösungsmittel für Polyglucane angeführt. Diese Netzwerkbildner bewirken ein gesteuertes Schmelzen oder "melt-back" des Schwamms während des Gefriertrocknens. Zur Lösung dieser Aufgabe soll der Netzwerkbildner folgende Eigenschaften besitzen:

1. Er soll in Wasser in einer solchen Menge löslich sein, daß er den Gefrierpunkt des Wassers so erniedrigen kann, daß die Bildung eines Netzwerks erfolgt.
2. Bei den Gefriertrocknungstemperaturen und unterhalb etwa 0°C soll sein Dampfdruck niedriger als der des Wassers sein.
3. An einem bestimmten Punkt während des Gefriertrocknens, wenn die Polyglucansuccinat- oder Polyglucanglutaratkonzentration mehr als 20% des gesamten Gewichtes der restlichen Masse beträgt, soll der Gefrierpunkt der Masse unter der Produkttemperatur liegen, das heißt, daß der gefrorene Anteil schmilzt.
4. Die an diesem Punkt gebildete Flüssigkeit muß ein Lösungsmittel für das Polyglucansuccinat oder -glutarat sein. Die optimale Menge des Netzwerkbildners hängt daher von dessen Art, der Konzentration des Polyglucansuccinats oder -glutarats, der Konzentration von Salzen mit niedrigem Molekulargewicht, dem Substitutionsgrad von Polyglucansuccinat oder -glutarat, dem pH-Wert der Lösung, der Salzart, der Dicke der gefrorenen Lösung, dem Wärmefluß zum Inhalt der Gefäße während des Gefriertrocknens, der Geometrie und der Länge des Diffusionsweges des Wassers zur Sublimation und Kondensation und dem im Gefriertrocknungsgefäß herrschenden Druck. Im allgemeinen werden etwa 0,15 bis 1 Teile des Netzwerkbildners pro Teil Polyglucansuccinat oder -glutarat eingesetzt.

- (g) Die Polyglucansuccinat- oder Polyglucanglutaratlösung wird mit dem Netzwerkbildner in ein Gefäß gegeben und unter Drehen in einem sehr kalten Bad bei weniger als etwa -30°C eingefroren. Wenn die Lösung nicht schnell unter Drehen eingefroren wird, bildet das Eis große, unregelmäßige Kristalle. Dies verursacht nach dem Lyophilisieren unerwünscht große und unregelmäßige Poren im Schwamm.
- (h) Das Gefäß wird sodann auf einen Wert von weniger als etwa 1,3 mbar evakuiert und der Inhalt gefriergetrocknet. Zur Ausbildung der netzwerkartigen Schwammstruktur während des Lyophilisierens wird das Vakuum in Abhängigkeit von der komplexen Wechselwirkung des jeweils verwendeten Netzwerkbildners, der Konzentration des Polyglucansuccinats oder -glutarats, der Konzentration der Salze mit niedrigem Molekulargewicht, dem Substitutionsgrad des Polyglucansuccinats oder -glutarats, dem pH-Wert der Lösung, der Salzart, der Schichtdicke der gefrorenen Lösung, dem Wärmefluß im Gefäß während des Lyophilisierens, der Geometrie und der Länge des Diffusionsweges des Wassers beim Sublimieren und Kondensieren und der Kondensationstemperatur eingestellt.
- (i) Nach dem Sublimieren wird der Schwamm von Polyglucansuccinat oder -glutarat durch Dehydratisieren vernetzt, wobei Reste des Lösungsmittelwassers und das bei der Vernetzungsreaktion entstehende Wasser entfernt werden. Die Vernetzung kann in einem Vakuumofen oder einem wasserfreien Lösungsmittel bei 55°C durchgeführt werden. Vorzugsweise erfolgt die Vernetzung in einem Umlufttrockner bei Temperaturen von 105 bis 135°C. Das das Produkt im allgemeinen oberhalb 135°C langsam abgebaut wird, bildet diese Temperatur die obere Grenze für die Vernetzungsreaktion. Die zur Vernetzung erforderliche Zeit hängt nicht nur von der Temperatur, dem Druck, dem Luftstrom und der relativen Feuchtigkeit, sondern auch von der Art des Polyglucans, vom Substitutionsgrad des Monoesters, dem pH-Wert des Produktes, der Salzart, der Konzentration der Salze mit niedrigem Molekulargewicht und der Dicke des Schwamms ab. Sie wird so gewählt, daß ein wasserunlösliches Produkt entsteht, das als pulverisiertes neutrales Natriumsalz (Teilchengröße: 0,15 bis 0,30 mm) sein Trockengewicht auf etwa das 5- bis 30fache seines Ausgangsgewichtes mit isotonischer Kochsalzlösung steigern kann. Um hämostatisch aktiv zu sein, soll das Pulver eine Salzretention von etwa 5 bis 30, vorzugsweise 5 bis 20 besitzen. Der vernetzte Schwamm ist bei 21°C und 65% relativer Luftfeuchtigkeit weich und von niedriger Dichte und hat eine Porengröße von durchschnittlich weniger als 1 mm, ein Leervolumen von 80 bis 95% und ein Schüttgewicht von 0,30 bis 0,075 g pro cm³.
- (j) Zur Erzielung maximaler Absorptionseigenschaften, bester biologischer Verträglichkeit und Stabilität wird der Schwamm in physiologisch verträgliche Salze, wie Natrium-, Kalium-, Magnesium-, Ammonium- oder Calciumsalze, mit einem pH-Wert von etwa 5 bis 8 überführt. Geeignete Anionen dieser Salze sind Succinate, Glutarate, Acetate, Hydroxide, Carbonate, Bicarbonate, Chloride oder ihre Gemische.
- (k) Die Schwämme können bis zu ihrem Gebrauch durch Absaugen der Feuchtigkeit, vorzugsweise aber durch Lösungsmittelaustausch oder an der Luft getrocknet werden.

Zur Herstellung von Schwämmen können die Stufen (c) und (d) weggelassen werden; in gleicher Weise können die Stufen (h) und (i) zusammengefaßt werden.

Neben ihrer Eignung als Trocknungsmittel und Flüssigkeitssorbentien sind die erfindungsgemäßen Hydrogelpulver und Schwämme äußerst wertvolle resorbierbare hämostatische Mittel. Sie bewirken eine sehr rasche Blutstillung und haften so fest an der Wunde, daß die Wunde beim Versuch, den Schwamm von der Wundoberfläche abziehen, aufgerissen wird. Sie werden vom Körper ohne wesentliche entzündliche Reaktionen, Verzögerung der Wundheilung oder Bildung toxischer Abbauprodukte vollständig resorbiert.

Weiter können sie zur Verbesserung ihrer hämostatischen Aktivität zu anderen resorbierbaren oder nicht resorbierbaren Grundwerkstoffen gegeben werden. Weiterhin können sie als Sprengmittel in Tabletten, wasserenthaltende Abführmittel, Mittel zur verzögerten Wirkstoffabgabe in Arzneimitteln und als Molekularsiebe verwendet werden.

25 33 005

Die bevorzugten erfindungsgemäßen schwammartigen Hydrogele haben eine mittlere Porengröße von weniger als 1 mm, ein Leergewicht von etwa 80 bis 95%, vorzugsweise 90 bis 93%, und ein Schüttgewicht von etwa 0,3 bis 0,075, vorzugsweise 0,15 bis 0,11 g/cm³.

Experimentell wurde festgestellt, daß durch Aufbringen von Hydrogelpulver der Erfindung auf die Oberfläche des Schwamms, der auf die Wunde aufgebracht werden soll, die hämostatische Aktivität des Produktes verbessert wird. In diesem Fall kann der Schwamm unter Zurücklassen des hämostatisch wirkenden Pulvers entfernt werden. Dadurch wird die gesamte Menge des hämostatischen Mittels verringert, das zur Aufrechterhaltung der Hämostase benötigt wird. Mengen von etwa 0,1 bis 1,0 Gewichtsteile des Pulvers pro Gewichtsteil des Schwamms sind besonders bevorzugt. Zu diesem Zweck soll das Pulver eine mittlere Teilchengröße von 0,075 bis 0,2 mm besitzen.

Die Beispiele erläutern die Erfindung.

Beispiel 1

Amylosesuccinat

400 g Kartoffelamylose mit 9,1% Wasser werden unter starkem Rühren in 4 Liter Wasser bei 23°C eingesiebt. Das erhaltene milchartige Gemisch wird auf 10°C gekühlt und mit 595 g einer 50,6prozentigen Natronlauge und 1,7 Liter Wasser versetzt. Nach dem Aufklaren werden bei 13°C in das Gemisch 685 g pulverisiertes Bernsteinsäureanhydrid eingesiebt. Nachdem der pH-Wert auf etwa 8 abgesunken ist, wird 5 N Natronlauge durch einen Tropftrichter mit einer solchen Geschwindigkeit eingetropft, daß der pH-Wert während der Reaktion zwischen 8 und 9 bleibt. Es werden 788 ml der 5 N Natronlauge verbraucht. Während der Umsetzung wird das Reaktionsgefäß so gekühlt, daß die Reaktionstemperatur 10 bis 22°C beträgt. Der Substitutionsgrad der Succinatreste wird nach folgender Gleichung berechnet:

$$\text{Substitutionsgrad} = \frac{162(20x - y)}{1000z}$$

wobei

x = Gewicht von Bernsteinsäureanhydrid in g,
y = mMol verbrauchtes Natriumhydroxid,
z = Trockengewicht der Amylose in g.

Daraus folgt:

$$\text{Substitutionsgrad} = \frac{162[20(685) - 11466]}{1000(363,6)} = 1,00.$$

Das Reaktionsgemisch wird sofort filtriert, um alle Teilchen zu entfernen, die größer als 0,005 mm sind. Der pH-Wert des Filtrats wird mit Essigsäure auf 4,0 eingestellt. Zur Entfernung von Salzen mit niedrigem Molekulargewicht wird die Lösung so lange in einem Celluloseschlauch dialysiert, bis die spezifische Leitfähigkeit der Lösung konstant ist. Die Lösung wird in einem Blitzverdampfer (Entspannungsverdampfer) auf eine Konzentration von 13,2% fester Bestandteile eingengt.

Die erhaltene Lösung (13,2% Feststoffgehalt; SG = 1,00; pH = 4,0), in der das Amylosesuccinat als Natriumsalz vorliegt, wird als 1 mm dicker Film auf Glasplatten gegossen. Die Filme werden 2 Stunden bei 60°C in einem Umlufttrockner getrocknet und unmittelbar danach in einem 120°C heißen Umlufttrockner etwa 20 Minuten vernetzt. Nach dem Abkühlen werden die Filme und Platten 15 Minuten in einer 5prozentigen wäßrigen Natriumbicarbonatlösung getränkt. Der Film wird von der Platte entfernt und auf ein Nylon-Tuch mit einem Flächengewicht von 28,8 g/m² gelegt. Das Produkt wird sodann in destilliertem Wasser in einem mit einem Messer ausgerüsteten Mischer von 0,946 Liter Inhalt 15 Sekunden bei hoher Geschwindigkeit gemahlen. Der pH-Wert wird mit wäßriger Bernsteinsäurelösung auf etwa 7,0 eingestellt. Das erhaltene Hydrogelpulver wird auf dem vorstehend genannten Tuch gesammelt und zweimal mit der 5fachen Menge seines gequollenen Volumens destilliertem Wasser gewaschen. Das Gel wird dadurch getrocknet, daß man es in der 10fachen Menge seines gequollenen Volumens wasserfreiem Aceton ausfällt. Nach dem Dekantieren des Acetons wird das Produkt in einem Vakuumofen 1 Stunde bei 60°C getrocknet. Das Produkt wird in einem Mörser leicht vermahlen, um Aggregate aufzubrechen. Das erhaltene Pulver wird nacheinander auf Sieben mit lichten Maschenweiten von 0,29, 0,15 und 0,075 mm gesiebt.

Die Salzretention wird dadurch bestimmt, daß 500 mg Pulver mit einem bestimmten Feuchtigkeitsgehalt, das aus der Siebung mit einem Sieb der lichten Maschenweite von 0,075 mm stammt, in 50 ml einer 0,9prozentigen wäßrigen Kcchsalzlösung 10 Minuten bei 23°C unter Rühren gequollen werden. Das Hydrogelpulver wird auf einem zuvor gewogenen Stück des vorstehend genannten Nylon-Tuches abtropfen gelassen. Das feuchte Produkt wird auf dem Tuch abgewogen und der Wert der Salzretention nach folgender Gleichung berechnet:

$$\text{Salzretention} = \frac{\text{Feuchtgewicht}}{\text{Trockengewicht}}$$

Die Salzretention beträgt 19,5.

Die hämostatische Wirksamkeit wurde durch die Fähigkeit des Materials, Blutungen an verletztem Milzgewe-

be zu stillen, bestimmt. Ein erwachsener Hund wird mit Natriumpentobarbital anästhetisiert. Durch einen abdominalen Mittellinieneinschnitt wird die Milz freigelegt. Mit einer gekrümmten Mayo-Sezierschere wird ein Stück Milzgewebe herausgeschnitten. Die ausgeschnittene Fläche beträgt etwa $2,5 \times 1$ cm; die Tiefe der Excision hängt von der Krümmung der Schere ab (ungefähr 3 mm tief). Die stark blutende Wunde wird mit trockener Baumwollgaze abgetupft, und sofort werden ungefähr 300 mg des trockenen neutralen Natriumamylosesuccinat-Hydrogelpulvers auf die Wunde gestreut, wobei das Pulver 30 Sekunden mit einem trockenen Cellulosegazeschwamm sanft angedrückt wird. Nach dem Entfernen des Gazeschwamms erfolgt kein weiteres Bluten. Der größte Teil des Pulvers ist nicht mit Blut getränkt. Auch nach 10 Minuten wird kein Bluten beobachtet, so daß das überschüssige Pulver durch Spülen mit isotonischer Kochsalzlösung entfernt wird. Der größte Teil des Pulvers quillt in der Kochsalzlösung und wird gewaschen. Das mit Blut getränkte Pulver bleibt an der Wunde, wirkt blutstillend und bekommt eine kautschukartige Konsistenz. Die Wunde kann beträchtlicher Bewegung widerstehen und blutet nicht, da die Kruste zäh an dem darunterliegenden Gewebe klebt.

Beispiel 2

Einfluß des pH-Wertes bei der Vernetzungsreaktion

Aus einem Ansatz an Amylosesuccinat (Substitutionsgrad 1,0), das gemäß Beispiel 1 hergestellt und gereinigt wurde, werden Proben durch Einstellen des pH-Wertes auf 5,0, 5,2 und 5,5 mit einer wäßrigen Natriumbicarbonatlösung hergestellt. 1 mm dicke Filme dieser Proben werden im Umlauftrockner 2 Stunden auf 60°C und danach 1,5 Stunden auf 120°C erhitzt. Sehr gute Vernetzung wurde bei pH-Werten von 5,0 und 5,2 erreicht, wie aus der Unlöslichkeit der zähen Filme beim Neutralisieren in 5% wäßriger Natriumbicarbonatlösung zu ersehen ist. Die bei einem pH-Wert von 5,5 vernetzte Probe bildete einen undurchsichtigen cremefarbenen Film, der sich in 5prozentiger wäßriger Natriumbicarbonatlösung auflöste, was darauf hindeutet, daß keine Vernetzung stattgefunden hat.

Beispiel 3

Amylosesuccinat mit maximalem Substitutionsgrad

Amylosesuccinat wird gemäß Beispiel 1 hergestellt. Es werden 30 g Amylose, 200 ml Wasser, 200 g Bernstein-säureanhydrid, 21,1 g 50,6prozentige wäßrige Natronlauge und 784,9 g 5 N Natronlauge verwendet. Der Substitutionsgrad des entstandenen Amylosesuccinats beträgt 2,43. Dieses Produkt wird filtriert, dialysiert und gemäß Beispiel 1 vernetzt. Einige Filme werden 22 Minuten auf 120°C und andere 35 Minuten auf 120°C erhitzt. Die Salzretention dieser Proben (Pulver mit Korngrößen kleiner als 0,15 mm) beträgt 16,0 bzw. 15,6. Diese Pulver stillen das Bluten einer Milzwunde bei einem Hund in weniger als 30 Sekunden.

Beispiel 4

Salze von Amylosesuccinat

Die Calcium-, Magnesium-, Kalium- und Ammoniumsalze eines vernetzten Pulvers von Amylosesuccinat (Substitutionsgrad 1,1; Salzretention 13,4; hergestellt gemäß Beispiel 1) werden wie folgt hergestellt:

Ungefähr 1,3 g des Natriumsalzes mit einer Korngröße von kleiner als 0,15 mm werden in 50 ml Wasser verrührt und mit 1 N Salzsäure auf einen pH-Wert von 4,0 angesäuert. Das Gel wird zweimal in 100 ml Wasser gewaschen und danach 4 Minuten in einer 5gewichtspromzentigen Lösung des in Tabelle I angegebenen Salzes gerührt. Das Gel wird dreimal in 100 ml Wasser, zweimal in 100 ml Aceton gewaschen und 1 Stunde unter vermindertem Druck auf 70°C erhitzt.

Tabelle I

| Kation | Wäßrige Salzlösungen von | Salzretention | Hämostasegeschwindigkeit |
|------------------|--------------------------|---------------|--|
| Ca^{++} | 5% Calciumchlorid | 8,1 | Bluten in weniger als 30 Sekunden gestillt |
| Mg^{++} | 5% Magnesiumacetat | 11,0 | desgl. |
| K^+ | 5% Kaliumacetat | 10,6 | desgl. |
| NH_4 | 5% Ammoniumbicarbonat | 10,2 | desgl. |

Beispiel 5

Dextransuccinat

100 g Dextran in 1 Liter Wasser werden bei 10°C abwechselnd mit 100 g Bernsteinsäureanhydrid und 314,8 g 5 N Natronlauge so versetzt, daß der pH-Wert zwischen 8 und 9 und die Temperatur zwischen 6 und 10°C bleibt. Der Substitutionsgrad des entstandenen Dextransuccinats beträgt 1,14. Die erhaltene Lösung wird mit Eisessig auf einen pH-Wert von 4 angesäuert, gegen Wasser so lange dialysiert, bis die spezifische Leitfähigkeit sich nicht mehr mit der Zeit ändert, und in einem Blitzverdampfer bei 45 bis 55°C auf einen Feststoffgehalt von 51%

eingengt. 1 mm dicke Filme der Polymerlösung werden auf Glasplatten gegossen. Einige Platten werden 2 Stunden auf 60°C und dann 1 Stunde auf 120°C, andere 220 Minuten auf 60°C und dann 127 Minuten auf 120°C erhitzt. Die Filme werden in 5prozentiger wäßriger Natriumbicarbonatlösung neutralisiert, in 100 ml Wasser in einem mit einem Messer ausgerüsteten hochtourigen Mischer 15 Sekunden gemahlen, filtriert und mit 600 ml Wasser vermischt. Danach wird der pH-Wert des Gemisches mit Bernsteinsäure auf 7,0 eingestellt und das gemahlene Produkt zweimal in 600 ml Wasser und zweimal in 400 ml Aceton gewaschen und in einem Vakuumofen 1 Stunde auf 60°C erhitzt. Die trockene Probe wird in einem Mörser gemahlen und in Korngrößen von 0,3 bis 0,15, 0,15 bis 0,075 und unter 0,075 mm gesiebt. Die Salzretention einer Probe mit einer Korngröße von 0,3 bis 0,15 mm, die kürzere Zeit erhitzt wurde, beträgt 85, die Salzretention einer länger erhitzten Probe beträgt 15,4. Diese Pulver haben gute hämostatische Eigenschaften auf einer Milzwunde, da sie die Blutung in weniger als 30 Sekunden stillen.

Beispiel 6

Pullulansuccinat

25 g Pullulan in 225 ml Wasser werden bei 10°C mit 24 g einer 50,6gewichtsprozentigen Natronlauge versetzt. Die Pullulanlösung wird gemäß Beispiel 5 abwechselnd mit insgesamt 35 g Bernsteinsäureanhydrid und 53,7 g 5 N Natronlauge versetzt. Der Substitutionsgrad des erhaltenen Pullulansuccinats beträgt 1,1. Die Pullulansuccinatlösung wird gemäß Beispiel 5 vernetzt. Der Film wird jedoch aus einer 36,3prozentigen Lösung hergestellt und 90 Minuten auf 60°C und dann 40 Minuten auf 120°C erhitzt. Die Salzretention eines Pulvers mit der Korngröße von 0,15 mm beträgt 19,9. Dieses Pulver hat gute hämostatische Eigenschaften auf einer Milzwunde, da es die Blutung in weniger als 30 Sekunden stillt.

Beispiel 7

Amyloseglutarat

55 g Amylose in 500 ml Wasser werden bei 10°C mit 25,8 g einer 50,6gewichtsprozentigen Natronlauge versetzt. Gemäß Beispiel 5 wird die Amyloselösung mit insgesamt 114,1 g Glutarsäureanhydrid und 277 g 5 N Natronlauge abwechselnd versetzt. Der Substitutionsgrad des erhaltenen Amyloseglutarats beträgt 1,6. Die Amyloseglutaratlösung wird gemäß Beispiel 5 vernetzt. Der Film wird jedoch aus einer 27,1prozentigen Lösung hergestellt und 1,5 Stunden auf 60°C und 25 Minuten auf 120°C erhitzt. Die Salzretention beträgt 14,3. Eine Probe dieses Pulvers hat gute hämostatische Eigenschaften auf einer Milzwunde, da sie die Blutung in weniger als 30 Sekunden stillt.

Beispiel 8

Dextran-Amylosesuccinat

44 g (52% Festbestandteile) eines gemäß Beispiel 5 hergestellten unvernetzten Dextransuccinats werden unter Rühren mit 156 g (14,5% Festbestandteile) eines gemäß Beispiel 1 hergestellten unvernetzten Amylosesuccinats versetzt. Der pH-Wert der Lösung wird mit wäßriger Natriumbicarbonatlösung auf 4,2 eingestellt. Ein 1 mm dicker Film dieser Lösung wird 150 Minuten auf 60°C und 100 Minuten auf 120°C erhitzt. Der Film wird gemäß Beispiel 5 zu Pulver verarbeitet. Die Salzretention eines Pulvers mit einer Korngröße von 0,15 mm beträgt 11,5. Dieses Pulver hat gute hämostatische Eigenschaften, da es die Blutung einer Milzwunde in weniger als 30 Sekunden stillt.

Beispiel 9

Pullulan-Amylosesuccinat

56 g (52% Festbestandteile) eines gemäß Beispiel 6 hergestellten unvernetzten Pullulansuccinats werden mit 142 g (14,5% Festbestandteile) unvernetztem Amylosesuccinat gemäß Beispiel 8 vermischt. Der Film wird jedoch 35 Minuten auf 120°C erhitzt. Die Salzretention beträgt 16,1. Das Pulver hat gute hämostatische Eigenschaften, da es die Blutung einer Milzwunde in weniger als 30 Sekunden stillt.

Beispiel 10

Amyloseglutarat — Amylosesuccinat

80 g (21,7% Festbestandteile) gemäß Beispiel 7 hergestelltes unvernetztes Amyloseglutarat werden mit 120 g (14,5% Festbestandteile) unvernetztem Amylosesuccinat gemäß Beispiel 8 vermischt. Der Film wird jedoch 25 Minuten auf 120°C erhitzt. Die Salzretention beträgt 22,8. Das Pulver hat gute hämostatische Eigenschaften, da es die Blutung einer Milzwunde in weniger als 30 Sekunden stillt.

Herstellung eines Amylosesuccinatschwamms

Formamid als Netzwurkbildner

400 g Kartoffelamylose mit 12,2% Wasser werden unter starkem Röhren bei 23°C in 4,7 Liter Wasser eingeseibt. Das erhaltene milchige Gemisch wird in einem Eisbad auf 10°C abgeköhlt und mit 1475,3 g einer 4,94 N Natronlauge versetzt. Nach dem Auflösen der Amylose werden 585 g pulverisiertes Bernsteinsäureanhydrid bei 8°C eingetragen. Nachdem der pH-Wert auf 7 abgesunken ist, wird 4,94 N Natronlauge durch einen Tropftrichter mit einer solchen Geschwindigkeit eingetropft, daß der pH-Wert während der Reaktion bei etwa 8 ± 1 bleibt. Es wird soviel Natronlauge zugegeben, bis sich der pH-Wert der Lösung bei 8,5 stabilisiert. Die zurückgebliebene Natronlauge wird abgewogen und der Gesamtumsatz der Base genau mit 2257,2 g oder 19129 ml bestimmt. Während der Reaktion wird das Reaktionsgefäß geköhlt, um die Reaktionstemperatur zwischen 8 und 20°C zu halten. Der Substitutionsgrad der Succinatgruppen pro Anhydroglucoseeinheit wird nach der in Beispiel 1 angegebenen Gleichung mit 1,04 berechnet. Nach beendeter Reaktion wird der pH-Wert der Lösung mit Essigsäure auf 4,5 eingestellt. Die Lösung wird filtriert, um alle Teilchen zu entfernen, die größer als 0,05 mm sind. Die filtrierte Lösung wird sodann dialysiert, um Moleküle mit niedrigem Molekulargewicht zu entfernen. Es wird in einer Hohlfadendialyseeinheit gegen destilliertes Wasser so lange dialysiert, bis eine konstante spezifische Leitfähigkeit bei einem Druckunterschied von 665 mbar auftritt. Der pH-Wert der Lösung wird während der Dialyse auf 4,0 eingestellt. Die erhaltene Lösung von Amylosesuccinat, das in der Natriumsalzform mit einem pH-Wert von 4,0 vorliegt, hat einen Feststoffgehalt von 5,15%. Ein Teil dieser Lösung, nämlich 126,2 g (die 6,5 g Feststoffen entsprechen), wird mit 24 ml Formamid und genügend Wasser gründlich vermischt, um das Gesamtgewicht auf 160 g zu bringen. Diese Lösung wird einheitlich an der Innenwand eines 1,2 Liter fassenden Virtis Shell-Gefrierkolbens (Modell Nr. F-128) gefroren, wobei der Kolben horizontal in einem Trockeneis/Acetonbad (–78°C) so lange gedreht wird, bis die gefrorene Lösung unter lautem Krachen von den Glaswänden abfällt. Nach dem Entfernen aus dem Trockeneis/Acetonbad wird der Kolben sofort in eine 25,8 cm lange Hülse eines kreisförmig geknüpften Kupfergitters gesteckt und an den Anschluß eines Gefriertrockners mit einem Edelstahlrohr von 8 cm Länge und 16 mm Innendurchmesser angeschlossen. Der Druck wird zwischen Probe und Kühlfalle gemessen und bei 0,8 mbar gehalten. Das Kupfergitter läßt während des Gefriertrocknens einen einheitlichen Wärmefluß in dem Kolben zu. Es wird auf diese Weise ein einheitlicherer Hydrogelschwamm erhalten.

Der Kolben wird den atmosphärischen Umgebungsbedingungen bei ungefähr 24°C und 50prozentiger relativer Luftfeuchtigkeit ausgesetzt und, wenn möglich, in Zeitabständen gedreht, um teilweise auftretende Unterschiede im Wärmefluß von einer Seite zur anderen auszugleichen. Beim Einfrieren eines Thermoelementfühlers in der Produktaußenhaut innerhalb des Kolbens wird festgestellt, daß die Gefriertrocknung hauptsächlich (ungefähr 4,5 Stunden) bei Temperaturen von –11 bis –9°C mit einem leichten Abfall zu –13°C kurz vor einem scharfen Temperatursprung zur Umgebungstemperatur am Ende der Gefriertrocknung erfolgt. Die Gefriertrocknung verläuft sehr rasch (ungefähr 1 Stunde schneller) an den Enden des Kolbens. Der Kolben wird noch mehrere Stunden am Gefriertrockner belassen, nachdem die Innentemperatur auf die Raumtemperatur gestiegen war.

Der Schwamm wird sorgfältig aus dem Kolben mit einem Spatel entfernt, aufgeschnitten und flachgelegt. Im Lufttrockner wird er 2 Stunden bei 60°C getrocknet und unmittelbar danach 25 Minuten bei 120°C vernetzt.

Der vernetzte Schwamm wird durch folgende Messungen gekennzeichnet: Grundgewicht, Dicke, Dichte, Leervolumen, Luftflußporosität und Salzretention. Mit Ausnahme der Salzretention werden diese Messungen an einem 41,7 cm² großen Stück eines nicht neutralisierten Schwammes durchgeführt, der mindestens 48 Stunden bei 21°C und 65prozentiger relativer Feuchtigkeit behandelt wurde. Das Grundgewicht beträgt 0,0192 g/cm². Die Dicke (0,165 cm) wird als Mittelwert von 13 Messungen bestimmt, die mit einem Zeigermikrometer ohne Belastung am Fuß durchgeführt wurden. Die Dichte beträgt 0,116 g/cm³. Das Leervolumen basiert auf der absoluten Dichte des Polymeren (1,5 g/cm³), die dadurch bestimmt wird, daß ein aus einem Schaum hergestelltes Pulver in Chloroform mit der Dichte 1,498 g/ml langsam sinkt und in Chloroform, das 25% Tetrachlorkohlenstoff mit der Dichte 1,595 g/ml enthält, schwimmt. Das Leervolumen wird mit 92,3% nach der folgenden Formel berechnet:

$$\left(1 - \frac{\text{Dichte}}{\text{absolute Dichte}}\right) \times 100 = \% \text{ Leervolumen}$$

Die Luftflußporosität wird mit einer Frazier Permeabilitäts-Meßvorrichtung mit einer speziellen Adaptorplatte gemessen, die die Schwammoberfläche für den Luftdurchlaß auf 6,26 cm² beschränkt. Die Luftflußporosität wird an drei Schwammoberflächen gemessen. Der Mittelwert beträgt 25 284,5 cm³/cm²/min bei 101,3 mbar, 21°C und 65% relativer Feuchtigkeit.

Die Salzretention wird an einer Probe bestimmt, die in einem Ofen bei 60°C bis zur Brüchigkeit getrocknet, sanft zu Pulver zerstoßen und zu Korngrößen von 0,3 bis 0,15 mm gesiebt wird. Diese Fraktion wird unter Röhren mit einer 5prozentigen wäßrigen Natriumbicarbonatlösung (75 ml/g des Pulvers) versetzt, danach auf einem Nylon-Tuch mit einem Flächengewicht von 28,8 g/m² gesammelt und dreimal mit dem fünffachen seines Quellvolumens an destilliertem Wasser gewaschen. Der Lösungsmittelaustausch des Gels wird mit dem zehnfachen seines Quellvolumens an wasserfreiem Aceton durchgeführt. Das Produkt wird in einem Vakuumofen 1 Stunde bei 60°C vollständig getrocknet. 500 mg des Pulvers (Trockengewicht nach Ofentrocknung) werden

unter Rühren 10 Minuten mit 50 ml einer 0,9prozentigen wäßrigen Kochsalzlösung bei 23°C versetzt. Das gequollene Pulver wird durch Abtropfen auf einem vorher abgewogenen Stück des Nylon-Tuches bis zum Ende des Tropfens zurückgewonnen; das nasse Pulver wird auf dem Tuch gewogen und die Salzretention nach der in Beispiel 1 angeführten Gleichung mit 13,25 bestimmt.

5 Zur Bestimmung der hämostatischen Eigenschaften wird der Schwamm unter sanftem Rühren in einer 10prozentigen wäßrigen Lösung von Calciumacetat (74 ml/g des Schwamms) neutralisiert. Danach wird eine Calciumhydroxidaufschlammung so lange zugegeben, bis sich der pH-Wert 10 Minuten bei 6,5 stabilisiert. Der Schwamm wird aus der Lösung entfernt, sanft abgepreßt, um überschüssige Lösung zu entfernen, und dreimal mit je 1,3 Liter destilliertem Wasser gewaschen. Die Feuchtigkeit im nassen Schwamm wird durch Lösungsmittelaustausch in wasserfreiem Aceton entfernt, was das Einschrumpfen des Schwamms auf nahezu seine Ausgangsgröße zur Folge hat. Danach wird er zwischen Löschpapier gelegt und getrocknet.

Die hämostatischen Eigenschaften des neutralisierten Schwamms werden gemäß Beispiel 1 bestimmt. Nach dem Abtupfen der Milzwunde mit trockener Baumwollgaze wird ein zweifach gefaltetes, 2,5 x 3,75 cm großes Schwammstück (ungefähr 300 mg) auf die Wunde gelegt und 30 Sekunden durch leichten Druck mit einer feuchten Cellulosegaze angedrückt. Nach dem Entfernen der Cellulosegaze wird der Schwamm weitere 30 Sekunden angedrückt, wenn noch eine Blutung auftritt. Die Bewertung basiert auf der Zahl der 30 Sekunden-Perioden des benötigten Andrucks.

15 Nach einem Minimum von 15 Minuten Beobachtung, ohne daß Blüten auftritt, wird der Schwamm mit isotonischer Kochsalzlösung gesättigt und physikalisch von der Wunde abgelöst, um seine Hafteigenschaften zu überprüfen. Nur die ersten 30 Sekunden werden zum Andrücken benötigt, um Hämostase zu bewirken. Der Schwamm haftet zäh an der Wunde, wobei er Druck, Bewegung, Strecken der Milz und Reiben widersteht.

Beispiel 12

25 Mikroskopische Charakterisierung von Amylosesuccinatschwämmen

Sechs Schwämme (A—F) werden gemäß Beispiel 11 hergestellt, jedoch werden folgende Mengen an Formamid verwendet: A kein Zusatz; B 1,9 ml; C 2,2 ml; D 2,4 ml; E 2,8 ml und F 3,2 ml.

Die Netzwerkbildung dieser Schwämme reicht von sehr feinem (B) zu sehr grobem Netzwerk (F). Die Ergebnisse physikalischer Messungen an diesen Schwämmen sind in Tabelle II zusammengefaßt:

Tabelle II

| 35 Probe | Grundgewicht, g/cm ² | Dicke, cm | Dichte, g/cm ³ | Leervolumen, % | Luftdurchfluß- porosität, cm ³ /cm ² /min | Salz- retention |
|--------------------|------------------------------------|--------------|------------------------------|-------------------|---|--------------------|
| A ¹⁾ | 0,0175 | 0,360 | 0,049 | 96,8 | 0 | 39,07 |
| B ¹⁾ | 0,0190 | 0,163 | 0,117 | 92,2 | 14 304,5 | 19,54 |
| 40 C ²⁾ | 0,0161 | 0,126 | 0,128 | 91,5 | 22 387 | 15,13 |
| D ¹⁾ | 0,0165 | 0,123 | 0,135 | 91,0 | 26 169 | 15,20 |
| E | 0,0150 | 0,105 | 0,143 | 90,5 | 30 378 | 13,27 |
| F | 0,0190 | 0,130 | 0,146 | 90,3 | 32 696 | 12,72 |

45 Anmerkungen:

¹⁾ Bezieht sich auf ein 100 cm² großes Schwammstück.

²⁾ Mittelwert von 6 Messungen an verschiedenen Stellen.

³⁾ Diese Probe kann nicht ohne Zerfallen in einzelne Gelteilchen neutralisiert werden.

Proben der Schwämme B, C, D und E werden in Epoxidharz eingebettet. Die Kanten der eingebetteten Schwämme werden dann von Hand mit rohem und feinem Sandpapier, Poliertuch und zum Schluß mit einer wäßrigen Aluminiumoxidpaste poliert. Der glatt polierte "Querschnitt", der mit einer 52fachen Vergrößerung in der Mikrophotographie von Fig. 2 gezeigt ist, wird im Dunkelfeld bei auffallendem Licht untersucht. Zahlreiche Oberflächen eines jeden "Querschnittes" werden fotografiert und auf eine Gesamtvergrößerung von 160 erweitert. Für jede der vier Proben werden 13 bis 20 Mikrophotographien aufgenommen. Auf jeder Vergrößerung wird eine Linie entlang und auf dem Querschnitt der glatten Schwammseite gezogen. Fünf weitere Linien, je 2,5 cm entfernt, werden durch die Dicke des Schnittes und parallel zur Schwammoberfläche gezogen. Ein metrisches Lineal wird entlang jeder Linie gelegt, und die Länge jeder Pore, die von der Linie getroffen wird, wird bis auf 0,1 cm (6,25 µm) genau gemessen. Die Messungen der Poren auf Linie 1 (glatte Schicht — die Seite in Kontakt mit der Behälteroberfläche während des Gefriertrocknens — im allgemeinen feiner und geschlossener in der Struktur — siehe unteren Teil der Oberfläche des Querschnitts in Fig. 2) und Linien 3, 4 und 5 (vereinigt), die die Hauptmasse des Schwammes repräsentieren, werden in Längenklassen von je 2 cm auf den Vergrößerungen (entsprechend 125 µm auf dem Schwamm) stückweise ausgezählt. Die Häufigkeitsverteilung von Poren pro Längenkategorie (Angabe in Prozent) ist in Tabelle III zusammengefaßt.

Tabelle III

| Größeneinteilung, Mikrometer | Anteil an der zentralen Hauptmasse als Schwamm in % Probe | | | | Anteil an der glatten Schicht des Schwamms in % Probe | | | | 5 |
|---------------------------------|---|------|------|------|---|----|----|----|----|
| | B | C | D | E | B | C | D | E | |
| 0—125 | 48,9 | 38,0 | 30,1 | 24,8 | 79 | 52 | 51 | 31 | 10 |
| 125—250 | 27,7 | 22,6 | 23,8 | 22,3 | 12 | 30 | 25 | 35 | |
| 250—375 | 10,4 | 17,3 | 21,2 | 22,1 | 5 | 9 | 11 | 17 | |
| 375—500 | 8,0 | 8,3 | 12,6 | 11,5 | 2 | 5 | 9 | 2 | |
| 500—625 | 3,0 | 4,9 | 5,0 | 4,0 | 2 | 1 | — | 7 | |
| 625—750 | 1,3 | 3,4 | 3,8 | 4,4 | 1 | 3 | 2 | 5 | 15 |
| 750—875 | 0,6 | 1,9 | 1,7 | 3,5 | — | 1 | 3 | 1 | |
| 875—1000 | — | 1,6 | 0,8 | 1,3 | — | — | — | 1 | |
| 1000—1125 | — | — | 0,4 | 1,8 | 1 | — | — | — | |
| 1125—1250 | — | 0,4 | — | 0,4 | — | — | — | 1 | |
| 1250—1375 | — | 0,8 | — | 0,9 | — | — | — | — | 20 |
| 1375—1500 | — | — | — | 0,4 | — | — | — | — | |
| 1500—1625 | — | 0,8 | — | — | — | — | — | — | |
| 1625—1750 | — | — | — | 0,9 | — | — | — | — | |
| 1750—1875 | — | 0,4 | — | 0,4 | — | — | — | — | |
| 1875—2000 | — | — | — | 0,4 | — | — | — | — | 25 |
| 2000—2125 | — | 0,4 | — | 0,4 | — | — | — | — | |

Diese Daten sind in Säulenform in der Fig. 4 angeführt. Die Daten für die glatte Seite des Schwamms sind nicht schraffiert gezeigt, da die Daten für die zentrale Hauptmasse des Schwamms durch Oberflächenschraffierung gezeigt sind.

Die in Tabelle IV angegebenen hämostatischen Daten werden gemäß Beispiel 11 erhalten.

Tabelle IV

| Probe | Zahl der 30 sec- Druckperioden bis zur Hämostase | Bemerkungen zum Haften auf der Wunde |
|-------|--|--|
| B | 2 | Kein Haften; das Blut dringt nicht durch den Schwamm, sammelt sich aber darunter, indem es eine weiche Kruste zwischen Schwamm und Wunde bildet. |
| D | 1 | Gutes Haften. |
| F | 3 | Gutes Haften, aber beim Strecken und Reiben dringt Blut durch die großen Poren. |

Beispiel 13

Amylosesuccinat-schwamm mit Formamid als Netzbildner hergestellt

Ein Schwamm wird gemäß Beispiel 11 hergestellt, jedoch hat die Probelösung einen Feststoffgehalt von 12,0 g und sie enthält 4,0 ml Formamid; sie wiegt insgesamt 250 g.

Folgende Werte werden von einem 100 cm² großen Schwammstück erhalten:

Grundgewicht, g/cm² 0,035
 Dicke, cm 0,260
 Dichte, g/cm³ 0,135
 Leervolumen, % 91,0
 Luftdurchflußporosität, cm³/cm²/min 18 147,5^{a)}
 Salzretention 12,74

^{a)} = Mittelwert von 6 Messungen

Die hämostatischen Eigenschaften dieses Schwamms (in Form seines Calciumsalzes werden gemäß Beispiel 11 bestimmt. Zwei 30-Sekunden-Druckperioden werden benötigt, um Hämostase zu erreichen; das Haften an der Wunde ist mit Ausnahme der Kanten gut.

25 33 005

Beispiel 14

Amylosesuccinatschwamm mit niedrigem Substitutionsgrad

Der Schwamm wird gemäß Beispiel 11 hergestellt, jedoch wird weniger Bernsteinsäureanhydrid eingesetzt, so daß ein Amylosesuccinat mit einem Substitutionsgrad von 0,324 anstatt 1,04 entsteht. Die zur Herstellung des Schwamms verwendete Formamidmenge beträgt 1,2 ml anstatt 2,4 ml.

Folgende Werte werden von einem 100 cm² großen Schwammstück erhalten:

- Grundgewicht, g/cm² 0,022
- Dicke, cm 0,130
- Dichte, g/cm³ 0,166
- Leervolumen, % 88,9
- Luftdurchflußporosität, cm³/cm²/min 18 147,5^{a)}
- Salzretention gelöst

^{a)} = Mittelwert von 6 Messungen

Beispiel 15

Amylosesuccinatschwamm mit hohem Substitutionsgrad

Der Schwamm wird gemäß Beispiel 11 hergestellt, jedoch wird mehr Bernsteinsäureanhydrid eingesetzt. Es wird Amylosesuccinat mit einem Substitutionsgrad von 2,08 anstatt 1,04 erhalten. Es werden 2,5 ml Formamid anstatt 2,4 ml verwendet.

Folgende Werte werden für den Schwamm erhalten:

- Grundgewicht, g/cm² 0,018
- Dicke, cm 0,133
- Dichte, g/cm³ 0,138
- Leervolumen, % 90,8
- Luftdurchflußporosität, cm³/cm²/min 25 925
- Salzretention 15,49

Die hämostatischen Eigenschaften des Schwamms (in Form seines Calciumsalzes) werden gemäß Beispiel 11 bestimmt. Es werden drei 30-Sekunden-Druckperioden benötigt, um Hämostase zu erreichen. Der Schwamm hat hervorragende Hafteigenschaften an der Wunde.

Beispiel 16

Amylosesuccinatschwamm mit Formamid als Netzwerkbildner hergestellt

Der Hydrogelschwamm wird gemäß Beispiel 11 hergestellt, jedoch werden 2,6 ml Formamid und als Gefrier-trocknungsgefäß ein mit Polytetrafluoräthylen beschichtetes Aluminiumgefäß (Abmessungen: Innendurchmesser 8,6 cm; Höhe 18,5 cm; Wanddicke 8 mm) verwendet, das einen größeren Wärmefluß zum Produkt als Glasgefäße zuläßt. Das Gefäß wird oben mit einem Gummistopfen verschlossen und an einen Gefriertrockner über ein Rohr mit 9 mm Innendurchmesser angeschlossen.

Ein 100 cm² großes Schwammstück weist folgende Werte auf:

- Grundgewicht, g/cm² 0,021
- Dicke, cm 0,086
- Dichte, g/cm³ 0,245
- Leervolumen, % 83,7
- Luftdurchflußporosität, cm³/cm²/min 15 189^{a)}
- Salzretention 11,97

^{a)} = Mittelwert von 6 Messungen

Die hämostatischen Eigenschaften des Schwamms (in Form seines Calciumsalzes) werden nach Beispiel 11 bestimmt. Um Hämostase zu erreichen, werden drei 30-Sekunden-Druckperioden benötigt. Mit Ausnahme der Kanten ist das Haften des Schwamms an der Wunde gut.

Beispiel 17

Amylosesuccinatschwamm mit Formamid als Netzbildner hergestellt

Der Hydrogelschwamm wird gemäß Beispiel 11 hergestellt, mit der Ausnahme, daß

1. die Lösung 7,0 g Feststoffe und 3,0 ml Formamid enthält und 180 g wiegt;
2. sie an der Innenwand eines mit Polytetrafluoräthylen ausgekleideten Aluminiumgefäßes (Abmessung: innerer Durchmesser 8,5 cm; Höhe 17,5 cm; Wanddicke 8 mm) gefroren wird, das an der Spitze mit einem Gummistopfen verschlossen ist, der in der Mitte ein 1 cm großes Loch hat;
3. in einem Etagegefrieretrockner bei 0,46 bis 0,53 mbar (zwischen Kühlfalle und Pumpe gemessen) gefriergetrocknet wird und die Etagentemperatur 93°C beträgt.

Der Schwamm besitzt folgende Werte:

Grundgewicht, g/cm² 0,022
 Dicke, cm 0,187
 Dichte, g/cm³ 0,115
 Leervolumen, % 92,3
 Luftdurchflußporosität, cm³/cm²/min 23 271,5
 Salzretention 12,79

Beispiel 18

Amylosesuccinatschwamm mit N-Methyl-2-pyrrolidon als Netzbildner hergestellt

Der Hydrogelschwamm wird gemäß Beispiel 11 hergestellt, mit der Ausnahme, daß 3,4 ml N-Methyl-2-pyrrolidon anstelle von Formamid eingesetzt werden und daß so viel Wasser zugesetzt wird, um das gesamte Lösungsvolumen auf 220 ml aufzufüllen.

Ein 100 cm² großes Schwammstück besitzt folgende Werte:

Grundgewicht, g/cm² 0,020
 Dicke, cm 0,184
 Dichte, g/cm³ 0,108
 Leervolumen, % 92,8
 Luftdurchflußporosität, cm³/cm²/min 14 518^{a)}
 Salzretention 25,96

^{a)} = Mittelwert von 6 Messungen

Die Probe des Schwamms wird zusätzlich 20 Minuten bei 120°C vernetzt, um ihm genügend Stärke zur Umwandlung in das Calciumsalz zu geben. Die hämostatischen Eigenschaften werden gemäß Beispiel 11 untersucht. Es werden zwei 30-Sekunden-Druckperioden benötigt. Der Schwamm hat hervorragende Hafteigenschaften an der Wunde.

Beispiel 19

Amylosesuccinatschwamm mit Dimethylsulfoxid (DMSO) als Netzbildner hergestellt

Der Schwamm wird gemäß Beispiel 11 hergestellt, mit der Ausnahme, daß 2,7 ml DMSO anstelle von Formamid eingesetzt werden.

Ein 100 cm² großes Schwammstück besitzt folgende Werte:

Grundgewicht, g/cm² 0,018
 Dicke, cm 0,164
 Dichte, g/cm³ 0,112
 Leervolumen, % 92,5
 Luftdurchflußporosität, cm³/cm²/min 19 916,5^{a)}
 Salzretention 21,68

^{a)} = Mittelwert von 6 Messungen

Die hämostatischen Eigenschaften des Schwamms (in Form seines Calciumsalzes) werden gemäß Beispiel 11 untersucht. Es werden zwei 30-Sekunden-Druckperioden benötigt, um Hämostase zu erreichen. Der Schwamm hat hervorragende Hafteigenschaften an der Wunde.

25 33 005

Beispiel 20

Amyloseglutaratschwamm

Der Schwamm wird gemäß Beispiel 11 hergestellt, mit der Ausnahme, daß Amyloseglutarat anstatt Amylosesuccinat eingesetzt wird. Das Verfahren zur Herstellung von Amyloseglutarat ist im wesentlichen gleich Beispiel 11, mit der Ausnahme, daß Bernsteinsäureanhydrid durch Glutarsäureanhydrid zusammen mit den anderen Reagentien in folgenden Mengen eingesetzt wird:

- Amylose (11,5% Wassergehalt) 55,1 g
- Wasser 500 ml
- 5 N Natronlauge, Anfangszugabe 65,0 ml
- Glutarsäureanhydrid (wasserfrei) 114,1 g
- 5 N Natronlauge, Zugabe während der Umsetzung 256,3 ml
- Natronlauge Gesamtzugabe (379,2 g) = 321,3 ml

Die Gleichung zur Bestimmung des Substitutionsgrades ist wie folgt zu modifizieren:

$$\text{Substitutionsgrad} = \frac{162 \left(\frac{2000x}{114,1} - y \right)}{1000z}$$

wobei

x = Glutarsäureanhydrid in Gramm

y = Natriumhydroxid in Mol

z = Trockengewicht der Amylose in Gramm

Daraus folgt:

$$\text{Substitutionsgrad} = \frac{162 \left[\frac{2000(114,1)}{114,1} - 5(321,3) \right]}{1000(48,8)} = 1,31$$

Der Schwamm hat folgende Eigenschaften:

- Grundgewicht, g/cm² 0,019
- Dicke, cm 0,173
- Dichte, g/cm³ 0,111
- Leervolumen, % 91,6
- Luftdurchflußporosität, cm³/cm²/min 15 372
- Salzretention 16,67

Die hämostatischen Eigenschaften des Schwamms (in Form seines Calciumsalzes) werden gemäß Beispiel 11 bestimmt. Um Hämostase zu erreichen, werden zwei 30-Sekunden-Druckperioden benötigt. Der Schwamm hat hervorragende Hafteigenschaften an der Wunde.

Beispiel 21

Amylosesuccinatpulver auf einem Amylosesuccinatschwamm

Gemäß Beispiel 1 hergestelltes vernetztes Amylosesuccinatpulver wird auf die Oberfläche eines vernetzten Amylosesuccinatschwamms gestreut, der gemäß Beispiel 11 hergestellt wurde. Zu diesem Zweck wird der Schwamm mit einem feinen Wassernebel besprüht, damit das Pulver an der Oberfläche anhaftet. Das Pulver wird danach auf der Schwammoberfläche getrocknet, indem es zwischen zwei Nylon-Tücher gelegt und 15 Minuten bei 50°C in einem Umlufttrockner getrocknet wird.

Die Schwämme mit dem Pulver auf einer Oberfläche werden zur Messung der hämostatischen Aktivität mit der gepuderten Oberfläche auf die Wunde gemäß Beispiel 11 gelegt. Wenn ein Pulver mit einer Korngröße von 0,3 bis 0,15 mm bei 10prozentiger Zugabe verwendet wird, werden gute Hämostase- und Hafteigenschaften an der Wunde beobachtet. Wenn ein Pulver mit Korngrößen von 0,15 bis 0,075 mm bei 30prozentiger Zugabe eingesetzt wird, wird Hämostase erreicht. Nach dem Anfeuchten mit isotonischer Kochsalzlösung kann der Schwamm entfernt werden, wobei ein Teil des Pulvers zurückbleibt, das die Hämostase bewirkt.

Hierzu 2 Blatt Zeichnungen

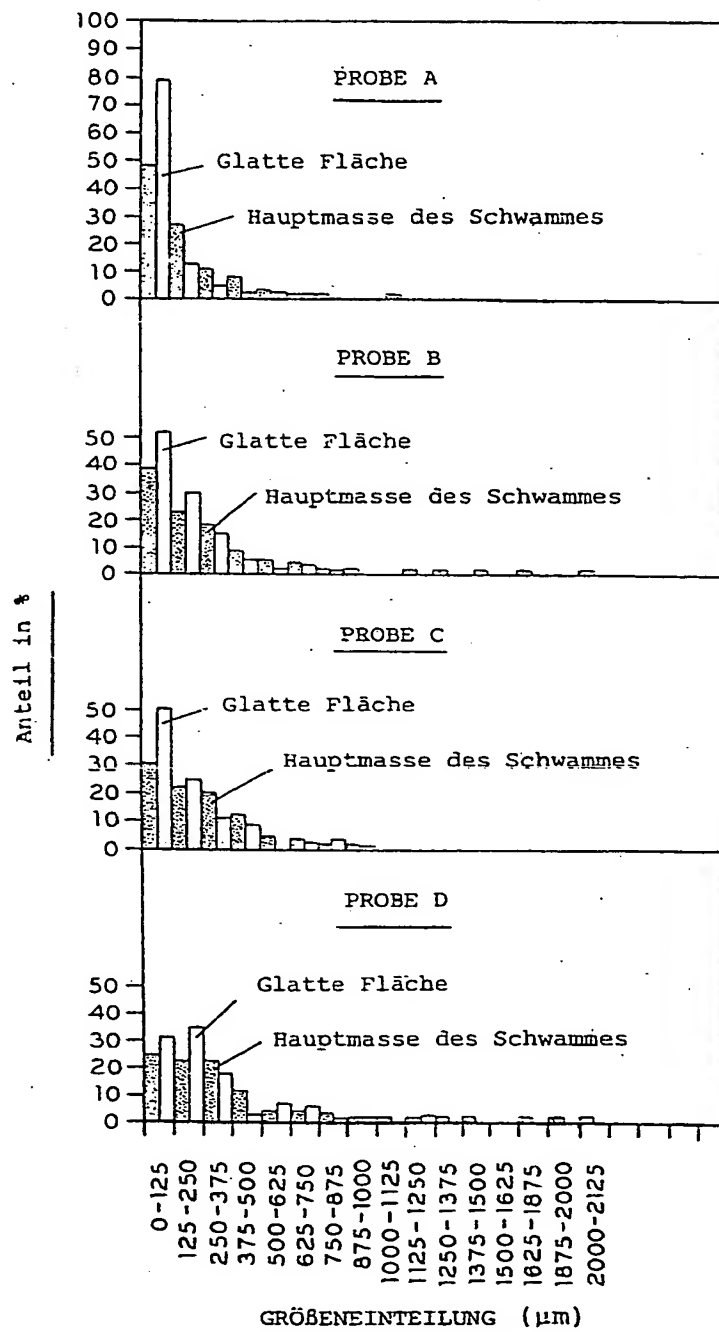


FIG. 4.

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.

THIS PAGE BLANK (USPTO)